动 物 学 研 究 2010，Aug. 31(4): 408−414 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI：10.3724/SP.J.1141.2010.04408

# 施氏獭蛤融合卵裂及其胚胎发育过程观察

焦宗垚[2]，刘 永[1,*]，张春芳[1]

(1. 广东海洋大学 珍珠研究所，广东 湛江 524025；2. 广东省海洋工程职业技术学校，广东 广州 510320)

**摘要**：对施氏獭蛤胚胎发育过程进行了观察，结果显示：(1)与其他双壳类相似，施氏獭蛤胚胎发育过程可以分为卵裂期、囊胚期、原肠期、担轮幼虫期和面盘幼虫期；(2)在卵裂阶段，施氏獭蛤的卵裂方式完全不同于其他动物：施氏獭蛤卵子发育到第一次成熟分裂前期(胚泡破裂前)即有受精能力，但卵子受精后未观察到极体排出的现象，而是有多核受精卵产生；在以后的卵裂过程中，受精卵没有进行其他动物的经裂或纬裂，而是以一种独特的、复杂的分裂方式——融合卵裂进行卵裂，即：二细胞、四细胞、八细胞进行下一次卵裂之前，细胞核逐渐消失，分裂球逐渐融合成一个细胞，一段时间后在细胞中央逐渐出现数量加倍的细胞核，细胞核逐渐向外周移动，最后一次性地分裂出数量加倍的分裂球。

**关键词**：施氏獭蛤；胚胎发育；融合卵裂
**中图分类号**：Q132；Q954.4；Q959.215 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2010)04-0408-07

# Fusion Cleavage and Observation on the Embryo Development of *Lutraria sieboldii* Reeve

JIAO Zong-Yao[2]，LIU Yong[1,*]，ZHANG Chun-Fang[1]

(1. *Pearl Research Institute of Guangdong Ocean University, Zhanjiang* 524025, *China*;
2. *Fisheries Technical Secondary School of Guangdong Province, Guangzhou* 510320, *China*)

**Abstract**: The embryonic development process of *Lutraria sieboldii* Reeve was observed. The results showed that：(1) Like other bivalves, its embryonic development could be divided into 5 phases: cleavage, blastula, gastrula, trochophore and veliger. (2) In cleavage phase, the cleavage mode for *Lutraria sieboldii* Reeve was completely different from other animals. Although the ova of *L. sieboldii* Reeve obtained the ability to fertilize before they developed into the prophase of meiosis I (prior to the breakage of blastocyst), the release of polar bodies was not observed posterior to fertilization of ova, instead multi-nuclear fertilized ova were found. In later cleavage, longitudinal or latitudinal cleavages with the fertilized eggs did not occur as in other animals. A more unique and intricate type of cleavage, we called it fusion cleavage, was observed, viz., before 2-cell, 4-cell, 8-cell blastomeres entered into next division, nuclei disappeared gradually, blastomere fused gradually into one cell. After some time, in the centre of the cell appeared gradually nuclei that had been doubled in number. The nuclei gradually moved outward, and finally number-doubled blastomeres were cleaved out at one time.

**Key words:** *Lutraria sieboldii* Reeve; Embryo development; Fusion cleavage

施氏獭蛤(*Lutraria sieboldii* Reeve)俗称象鼻螺(图 1)，隶属软体动物门(Mollusca)瓣鳃纲(Lamellibranchia)异齿亚纲(Heterodonta) 帘蛤目(Veneroida) 蛤蜊总科(Mactracea)蛤蜊科(Mactridae)獭蛤属(Lutraria)，自然分布于热带、亚热带的海区，在我国主要分布在浙江、广东、广西和海南的部分沙或沙泥底质的海区。Cai et al(2005)和 Liu et al(2006；2007)等对施氏獭蛤的生态、幼虫和稚贝的发育和行为以及人工育苗进行了研究报道，但是还没有关于施氏獭蛤胚胎发育的研究报道。为此，我们 2007 年 11—12 月进行了施氏獭蛤胚胎发育的研究。

收稿日期：2009-12-31；接受日期：2010-06-15
*通讯作者(Corresponding author)，E-mail: liuy89@gdou.edu.cn
第一作者简介：焦宗垚，女，高级讲师，研究方向：海水经济贝类增养殖。E-mail: jiao_zy@126.com



图 1　施氏獭蛤
Fig. 1　*Lutraria sieboldii* Reeve

## 1　材料和方法

### 1.1　亲贝来源

2007 年 11 月 6 日和 12 月 4 日分两批次从湛江市遂溪县草潭镇购得。共 66 只，贝龄为 1～3 龄，壳长 7～10.5 cm。

### 1.2　受精卵的获得方法

受精卵是由人工授精的方法获得。用解剖刀打开亲贝、取出软体部、去除外套膜和鳃，然后洗净；将从生殖孔挤出的精子和卵子分别置于 200 mL 烧杯中；现场配制氨水原液体积分数为 $10×10^{-6}$ 的氨海水(所用氨水原液浓度为 25%～28%；所用海水条件比重为 1.019)，置于 3 000 mL 大烧杯中；将精子和卵子搅拌均匀后倒入所配制的氨海水中，每隔 30 min 洗卵一次，共洗卵 3 次，以去除水体中的氨和多余的精子。将大烧杯置于水浴锅中，使受精卵在 25℃的水温条件下恒温发育。

### 1.3 卵子受精情况及胚胎发育的观察

精卵混合后，每隔 5 min 用吸管吸取受精卵或胚胎置于凹玻片上，盖上盖玻片，在 LEICA DM6000B 型数码显微镜 20 倍物镜下观察卵子的受精及胚胎发育情况，记录不同胚胎发育阶段的发育时间、胚体大小及特点，并对不同胚胎发育阶段的胚体进行拍照。

## 2　结　果

### 2.1　施氏獭蛤精子、卵子的特点

不论施氏獭蛤亲贝的性腺成熟度如何，只要肉眼观察有一定的性腺，都可以通过解剖法获得成熟度良好的卵子和精子：在显微镜下观察，卵子是处于第一次成熟分裂之前，细胞核(胚泡)尚存在的初级卵母细胞，呈正圆形，卵径在 70 μm 左右，卵膜薄而光滑，卵核大而明显，位于细胞中央，卵黄丰富、均匀，为沉性卵；精子属鞭毛型，在水中游动活跃。由解剖法获得的精子和卵子只有量的区别，而没有质的区别，都可以正常的受精，受精卵都可以正常进行发育。

### 2.2　胚胎发育过程及胚胎发育图谱

胚胎发育过程：精卵混合后 5 min 左右，卵子即行受精，卵核逐渐模糊，并很快消失，受精卵产生一层透明的受精膜。卵子受精后未观察到极体排出现象。受精 20 min 时出现具有 2、4 个细胞核的受精卵细胞，然后逐渐出现 8、16 个细胞核的受精卵细胞。出现具有 2、4 个细胞核的受精卵细胞后约 10 min 开始出现真正的二细胞，二细胞的两个卵裂球内的核数量不一，有 1—1、2—2、1—3、7—1、6—2、5—3、4—4 型。然后逐渐出现四细胞、八细胞、十六细胞，三十二细胞，观察到的四细胞期核的分布有 1—1—1—1、2—2—2—2 型，八细胞、十六细胞，三十二细胞的每个卵裂球内只有一个核。再经几次分裂胚体呈桑椹状，到达桑椹期。卵裂继续，至受精后 195 min 左右胚体发育成为椭圆球形，周围细胞长出细小纤毛，开始在水中作做顺时针旋转，为囊胚期。胚体继续发育，至受精后 480 min 左右胚体长出一纤毛环，中央具鞭毛束，称为担轮幼虫，这时幼虫能在水中做直线运动。当胚胎发育至受精后 17 h 时，胚体开始分泌原壳，消化系统开始分化，运动器官面盘已具雏形，此时为面盘幼虫初期。当历时 20 h 后，胚体的面盘、摄食消化器官完全形成，D 形贝壳完全覆盖身体，卵黄颗粒丰富，称为面盘幼虫期，或称为直线绞合幼虫期。

施氏獭蛤胚胎各发育时期及其特点见表 1，发育图谱见图 2。

### 2.3　施氏獭蛤卵裂类型、方式

虽然在 32 细胞期之前的施氏獭蛤卵裂过程中产生 1 个大卵裂球，其它均为小卵裂球，但此大卵裂球有细胞核，所以其卵裂为完全卵裂类型；但不同于其他动物，其卵裂方式既没有经裂，也没有纬裂，而是以以下几种独特的方式进行卵裂。

(1)完全融合式卵裂：受精卵分裂为 2 个卵裂球，然后 2 个卵裂球又融合为一个细胞，再爆炸式分裂为四细胞，再融合，再分裂，直到十六细胞期，十六细胞期后卵裂球不再融合，所以在十六细胞期以前，存在大量外观好像受精卵的无核细胞；而在分裂融合的过程中伴随着细胞核规律性的出现和消失，其过程见图 3。

(2)爆炸式卵裂：首先，受精卵细胞不分裂，只

**表 1 施氏獭蛤胚胎发育过程(海水温度 25℃)**

**Tab. 1 The embryo developmental process of *Lutraria sieboldii* Reeve at the water temperature of 25℃**

| 发育阶段<br>Stage | 发育时间<br>Time (min) | 胚体大小<br>Size (μm) | 主要特征<br>Main characteristics | 图 2 中的位置<br>Location in Fig.2 |
|---|---|---|---|---|
| 精卵混合 | 0 | | | |
| 受精卵 | 5 | 70 | 卵子的细胞核逐渐消失(胚泡破裂)，并出现受精膜。 | a |
| 多核细胞 | 15 | 70 | 发现部分 2、4、8 核细胞，但主要为核消失的受精卵。 | b,c,d |
| 二细胞期 | 20 | | 出现少量真正 2 细胞，约 10%～20%，但主要是受精卵状细胞和 2、4、8 核细胞。 | f |
| 16 核细胞 | 30 | 70 | 出现 16 核细胞。 | e |
| 四细胞期 | 45 | | 出现真正的 4 细胞，约 10%～20%，以受精卵状细胞和 2、4、8、16 核细胞为主。 | g |
| 八细胞期 | 55 | | 出现真正 8 细胞，主要为受精卵状细胞和 4 核、8 核、16 核细胞。 | h |
| 十六细胞期 | 65 | | 出现大量真正 16 细胞。十六细胞期后，卵裂球不再发生融合现象。 | i |
| 三十二细胞期 | 95 | | 32 细胞及之前的多细胞胚体，有一个大卵裂球，其余为小卵裂球。 | j |
| 桑椹期 | 130 | | 胚体外包卵膜，桑椹状，细胞界限不清晰。 | |
| 囊胚期 | 195 | 68×77 | 胚体外表细胞生出短纤毛，并开始顺时针转动，上浮于水体中，有集群习性。 | k |
| 原肠期 | 270 | 68×77 | 胚体圆形，包在卵膜内，表面密生纤毛。 | l,m |
| 担轮幼虫期 | 480 | 72×77 | 胚体拉长，具有顶鞭毛及口前纤毛轮，无卵膜，开始定向运动。 | n |
| 面盘幼虫期 | 1200 | 77×96 | 受精 17 h 后，胚体扁平，面盘形成，壳腺开始分泌第一原壳，消化器官开始形成。<br>20 h，胚体被完全包在“D”形壳内，卵黄非常丰富；胃肠发育完全，逐渐开始摄食。 | o |

是核进行分裂形成多核受精卵，到一定的时间，可以直接分裂为 4、8、16 细胞，其过程见图 3a, e, f, g, h 和图 3a, k, l, m。

(3)爆炸式、融合式合并型卵裂：多核受精卵爆炸式卵裂直接分裂为 4 或 8 细胞胚体，然后进行融合式卵裂。

(4)不完全融合式卵裂：卵裂球未完全融合为一个细胞时，又进行分裂，但分裂并非一分为二式的分裂，而且每个卵裂球的出现是不同步的，具体过程如图 4 所示：4 细胞期胚体未完全融合为一个细胞时(图 4：a, b, c)，其中的大细胞首先分裂出另一个小细胞，变为 5 细胞(图 4d)，然后大细胞又逐渐分裂出另外 3 个小细胞，形成 8 细胞胚体(图 4：d,e)。由不同步分裂形成的 3 细胞胚体和 5 细胞胚体分别见图 5（a, b, c, d 和 e, f）。

## 3 讨 论

### 3.1 施氏獭蛤的几种卵裂方式之间的关系

在上述的几种卵裂方式中，前 3 种是主要方式，不完全融合式卵裂较少发生。而完全融合式卵裂是最根本的卵裂方式：一方面，爆炸式卵裂可以看作缺少一个或几个融合步骤的完全融合式卵裂；另一方面，完全融合式卵裂中包含着爆炸式卵裂，即：分裂球在进行下一次分裂前首先融合为一个细胞，每一次分裂球的融合之后，必将进行爆炸式分裂，因此，分裂球的融合是原因，爆炸式分裂是结果，爆炸式卵裂可以看作是完全融合式卵裂的一部分。

### 3.2 关于施氏獭蛤第一次卵裂的方式

施氏獭蛤受精卵分裂为二细胞有多种形式：受精卵细胞向一个方向或两个方向突出、延长，断裂为两个细胞（见图 6：a, b, c）；细胞在某一点向内凹陷或内陷，最后缢裂为 2 个细胞（见图 6：d, e）；也可以在一点向外溢出，形成两个细胞（见图 6f）。两个分裂球绝大部分是不等的，但也有个别分裂球是相对均等的（见图 6：b, f, g, h, i, j, k, l）；进行二分裂的细胞既有受精卵状的无核细胞，又可以是具有 2、4 或 8 核的多核细胞（见图 6：b, f, g, h, i, j, k, l）。因此，施氏獭蛤的第一次卵裂方向和形式是随机的，并没有经裂、纬裂的划分。

### 3.3 施氏獭蛤卵裂与其他动物卵裂的区别

动物的卵裂类型多种多样，但归结起来都是受精卵经裂与纬裂的结果(Gui & Yi, 2002；Li, 2006; Twyman, 2002)。施氏獭蛤的卵裂与其他动物的卵裂有着根本的区别：首先，施氏獭蛤卵裂并非其他动物的经裂与纬裂的组合，并非一分为二式的分裂；其次，施氏獭蛤卵裂过程中的分裂球融合现象，是所有其他动物不具有的；第三，施氏獭蛤可以在受精卵细胞不分裂的情况下进行核的多次分裂，然后直接分裂为 4、8 或 16 细胞；第四，施氏獭蛤卵裂过程中卵裂球的分裂可以是不同步的。

### 3.4 关于施氏獭蛤与其他双壳类的非正常卵裂

双壳类的卵子为沉性卵，受精卵和未受精卵都沉于容器的底部；当受精卵发育至囊胚期及以后时期时，即具有了活动能力，从容器底部上浮到水层

中；此时通过显微镜检查试验容器底部沉淀物即可了解卵子受精和非正常卵裂(畸形胚胎)情况。通过多年的观察，双壳类的卵子只要能够正常受精，都可以进行正常卵裂，并发育成直线绞合幼虫；尽管有时在显微镜下可以观察到个别畸形的直线绞合幼虫，但在胚胎发育早期的卵裂阶段并未发现非正

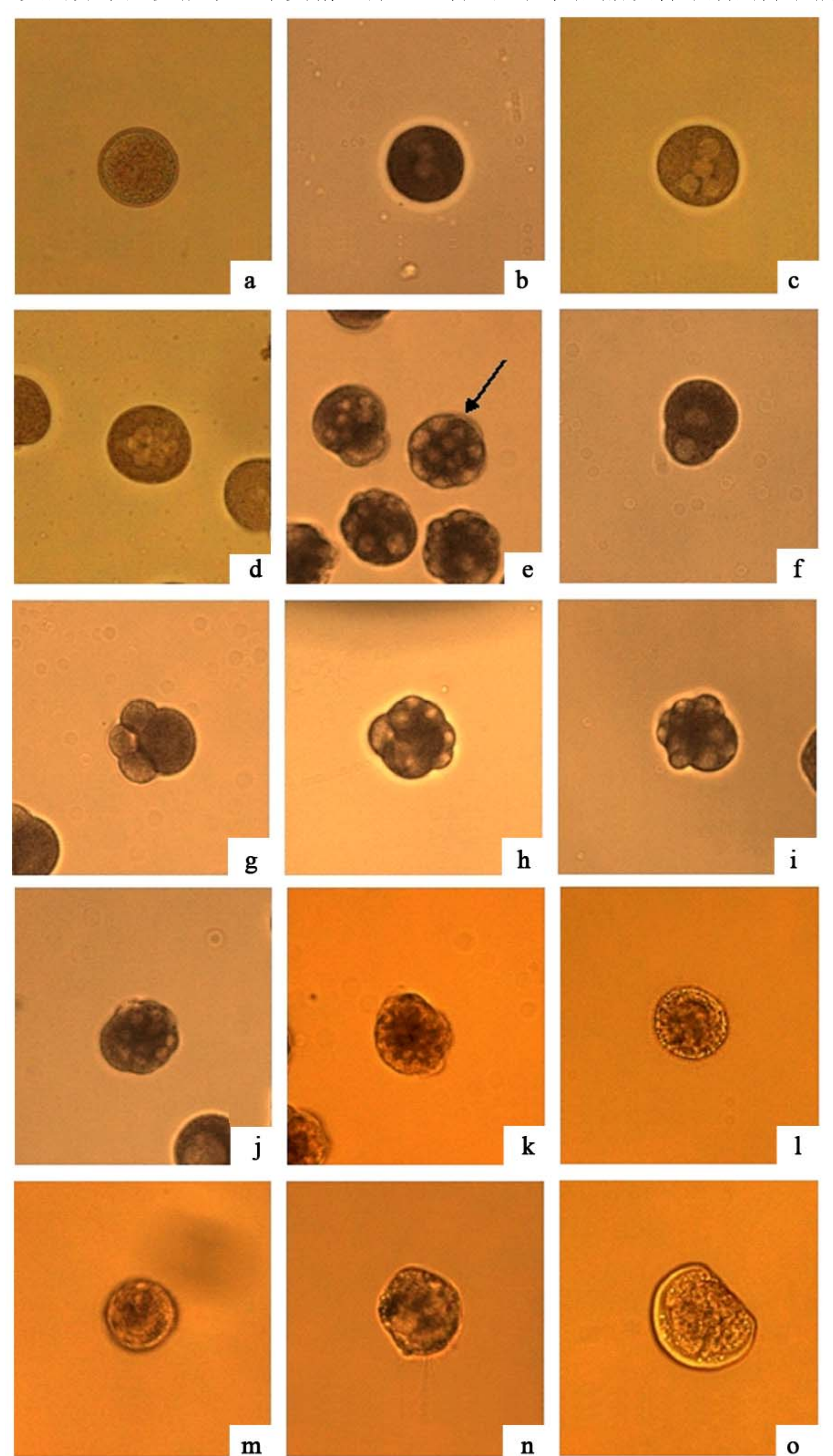



图 2 施氏獭蛤的胚胎发育图谱

Fig. 2 The embryo developmental color atlas of *Lutraria sieboldii* Reeve

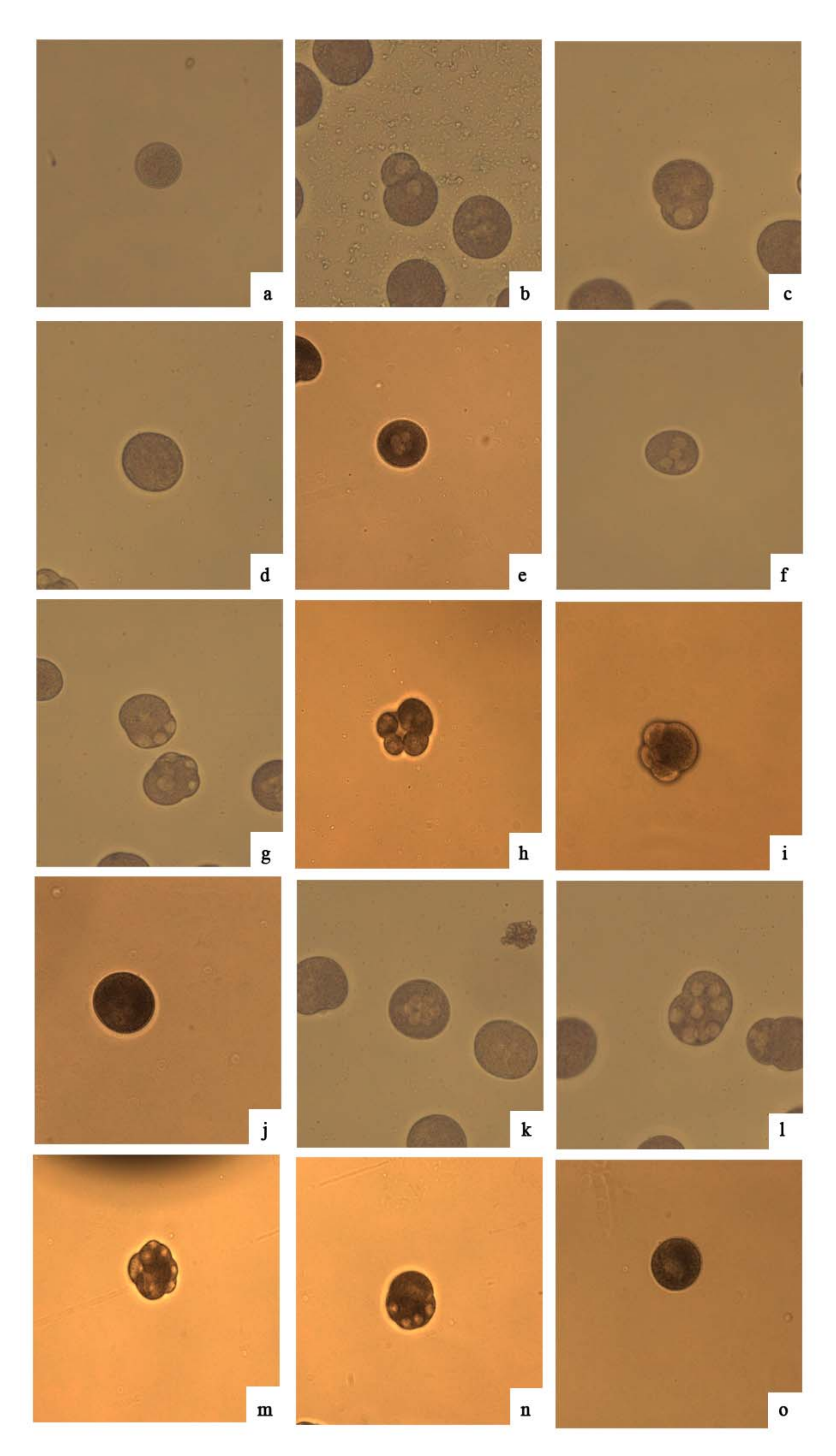



图 3 完全融合卵裂过程示意图

Fig. 3 The illustration of the process of complete-fusion cleavage

常卵裂(畸形胚胎)现象。试验中观察到的施氏獭蛤精子、卵子成熟度很高(卵子大小均匀、核仁明显、且均呈正圆形，精子活动能力较强)，卵子受精率极高，且受精卵均可以发育至正常的直线绞合幼虫，

因此，试验观察到的卵裂方式并非非正常卵裂。

### 3.5 极体和卵裂方式的关系

动物的卵子在水中静止时总是动物极朝上，植物极朝下。动物受精卵通常在动物极排出极体，因此，受卵黄的影响，在受精卵未分裂时不容易观察到排出的极体，但在二细胞期应该可以很容易地观察到极体位于两卵裂球之间(经裂的结果)或小卵裂球的顶端(纬裂的结果)，而我们在施氏獭蛤胚胎发育过程中始终没有发现极体。施氏獭蛤的卵子在体内只能发育到第一次成熟分裂前期，即成熟卵处于初级卵母细胞时期(细胞核尚存在)，此时即可接受精子；按常规的发育规律，施氏獭蛤卵子受精后应该相继排出第一极体和第二极体，再进行一系列经裂和纬裂；然而，施氏獭蛤卵子受精后，既没有排出极体，也没有进行常规的经裂和纬裂，而是以一种独特的方式进行卵裂，因此，极体未排出和其独特的卵裂方式之间是否存在某种必然的联系，有待于进一步的研究和探讨。

### 3.6 施氏獭蛤早期卵裂的细胞周期划分

动物体细胞的细胞周期通常可以划分为 4 个阶段：复制前期(G1)、复制期(S)、分裂前期(G2)和分裂期(M)。与体细胞相比，早期卵裂的细胞周期要简单一些，胚胎细胞的分裂速度要快得多，特别是体外产卵、体外孵化的动物的早期卵裂细胞，基本上都排除了分裂中期与 DNA 合成的间隙期(G1)及 DNA 合成与分裂中期的间隙期(G2)，其细胞周期仅由 M、S 这两个阶段组成，因而卵裂细胞的增殖速度特快，很快由一个受精卵 1 分为 2、2 分为 4、4 分为 8 (Gui & Yi,2002)。而施氏獭蛤早期卵裂有着和体细胞一样的、明确的细胞周期划分，即，在一个卵裂细胞周期内有明显的复制前期(G1)、复制期(S)、分裂前期(G2)、分裂期(M)：复制前期(G1)为卵裂球开始融合之前的时期；复制期(S)为卵裂球开始融合、细胞核消失的时期，在此时期染色体进行复制；分裂前期(G2)为细胞核重新出现的时期，即染色体复制完成，准备进行分裂的时期；分裂期(M)为卵裂球进行分裂的时期，即染色体和细胞质分离的时期。

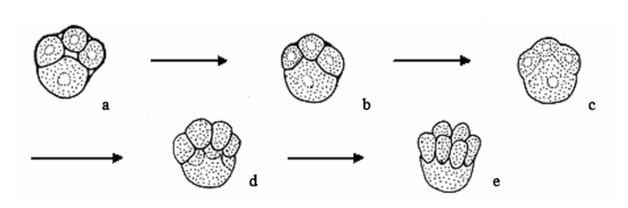



图 4 不完全融合式卵裂过程示意图

Fig. 4 The illustration of the process of incomplete-fusion cleavage

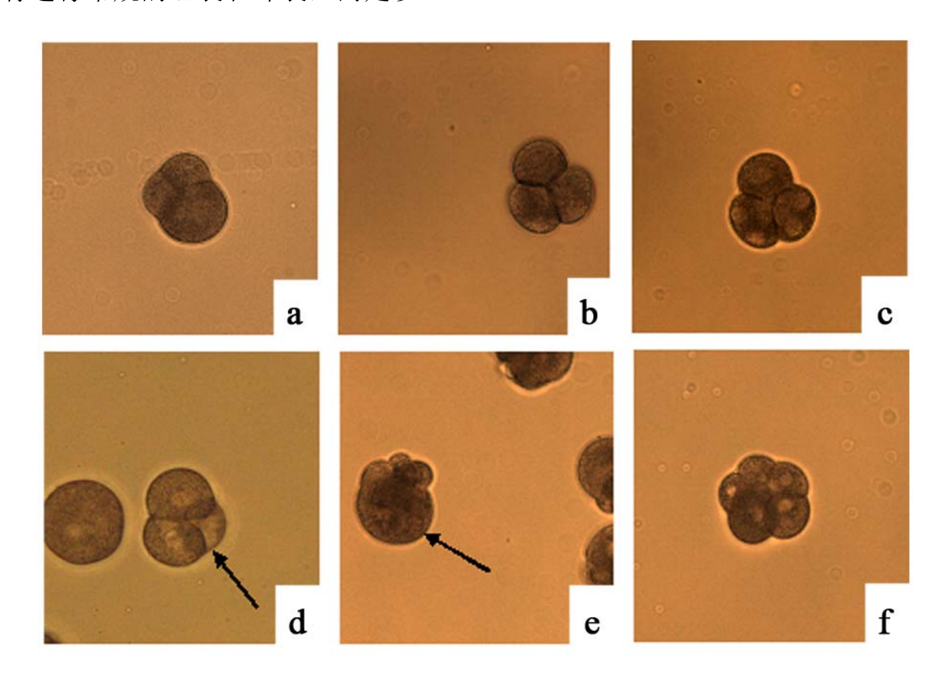



图 5 由不同步分裂形成的 3 细胞和 5 细胞

Fig. 5 The three-cell embryo and five-cell embryo engendering from asynchronous cleavage

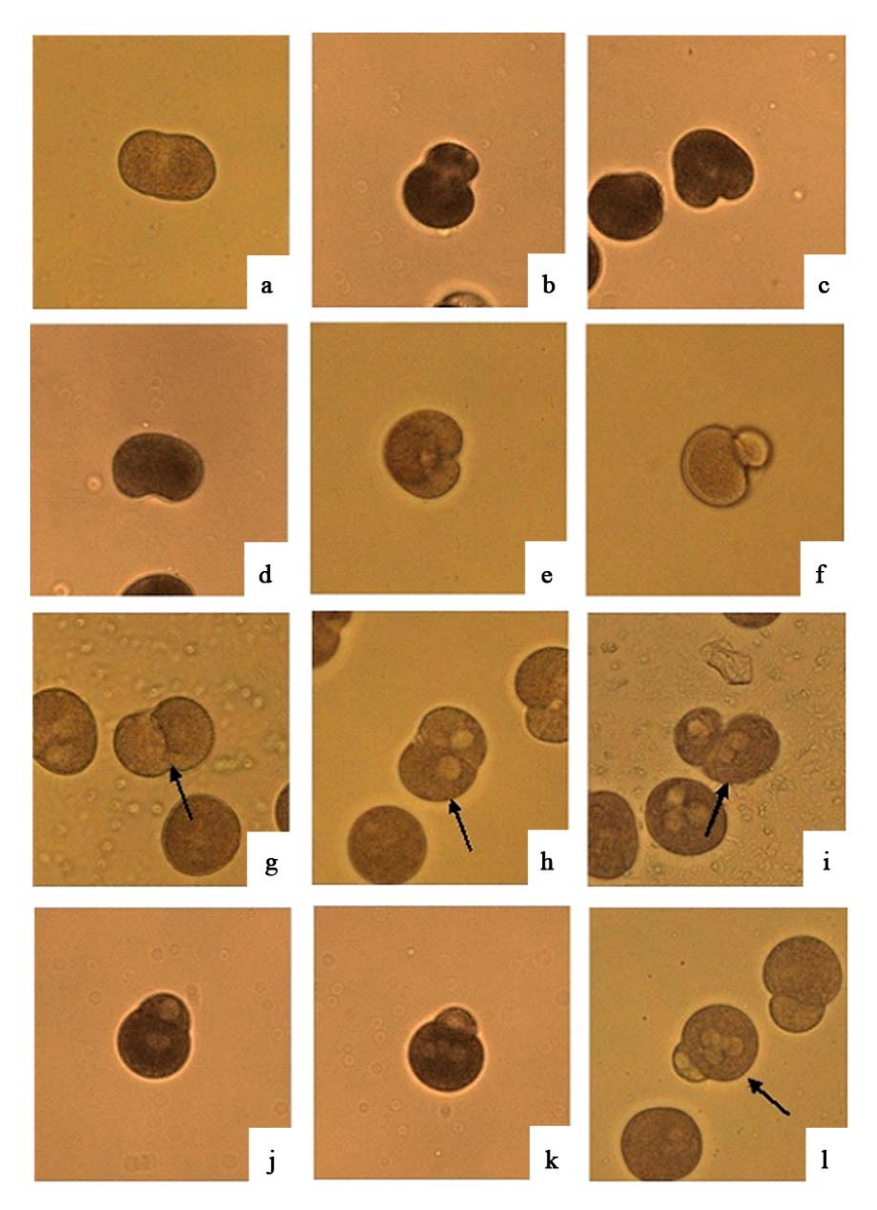



图 6 施氏獭蛤第一次卵裂的方式

Fig. 6 The patterns of the first cleavage of *Lutraria sieboldii* Reeve

## 参考文献：


Cai YY, Lao Z, Chen D. 2005. An ecological observation of *Lutraria sieboldii*[J]. *J Zhanjiang Ocean Univ*, **25**(1): 39-42. [蔡英亚, 劳 赞, 陈 东. 2005. 施氏獭蛤的生态观察. 湛江海洋大学学报, **25**(1): 39-42.]

Gui JF, Yi MS. 2002. Developmental Biology [M]. Beijing: Science Press, 96-108. [桂建芳, 易梅生. 2002. 发育生物学. 北京: 科学出版社, 96-108.]

Li X. 2006. Histology and Embryology of Aquatic Animals [M]. Beijing: China Agriculture Press, 203-350. [李 霞. 2006. 水产动物组织胚胎学. 北京: 中国农业出版社, 203-350.]

Liu Y, Liang FL, Mao Y, Yu XY. 2006. Studies on artificial hatching technique for *Lutraria sieboldii*[J]. *J Zhanjiang Ocean Univ*,. **26**(3): 98-101 [刘 永, 梁飞龙, 毛 勇, 余祥勇. 2006. 施氏獭蛤人工育苗技术的研究. 湛江海洋大学学报, **26**(3): 98-101.]

Liu Y, Yu XY, Liang FL, Mao Y. 2007. Development and behavior of the larvae and juveniles of *Lutraria sieboldii Reeve*[J]. *J Guangdong Ocean Univ*, **27**(1): 17-21. [刘 永, 余祥勇, 梁飞龙, 毛 勇. 2007. 施氏獭蛤幼虫和稚贝发育及行为的研究. 广东海洋大学学报, **27**(1): 17-21.]

Twyman RM. 2002. Instant Notes in Developmental Biology[M]. Beijing: Science Press, 161-171. [Twyman RM. 2002. 发育生物学. 北京: 科学出版社, 161-171.]